



# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **04 DEC. 2003**

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 260899

<b>REMISE DES PIÈCES</b> DATE <b>30 JAN 2003</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b> N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>30 JAN. 2003</b> <b>V s r f r e n c e s p o u r c e d o s s i e r</b> (facultatif) OA03025/DBA		<b>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE L'OREAL Myriam ALLAB - D.I.P.I 6, rue Bertrand Sinholle 92585 CLICHY cedex France	
<b>Confirmation d'un dépôt par télécopie</b> <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie		<b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b> Demande de brevet <input checked="" type="checkbox"/> Demande de certificat d'utilité <input type="checkbox"/> Demande divisionnaire <input type="checkbox"/> <i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____ <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i> N° _____ Date ____/____/____ Transformation d'une demande de brevet européen <input type="checkbox"/> <i>Demande de brevet initiale</i> N° _____ Date ____/____/____	
<b>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b> Composition à base de vésicules lamellaires lipidiques incorporant au moins un dérivé de la famille du céramide 7 et/ou 5.5, utilisation pour améliorer la fonction barrière des épidermes.			
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ</b> <b>OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE</b> <b>LA DATE DE DÉPÔT D'UNE</b> <b>DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date ____/____/____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
<b>5 DEMANDEUR</b> Nom ou dénomination sociale Prénoms Forme juridique N° SIREN Code APE-NAF Adresse Rue Code postal et ville Pays Nationalité N° de téléphone (facultatif) N° de télécopie (facultatif) Adresse électronique (facultatif)		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suit » L'ORÉAL SA 14, rue Royale 75008 PARIS France Française 01.47.56.86.81 01.47.56.73.88	

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2



REMISE DES PIÈCES DATE 75 INPI PARIS LIEU 0301059 N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI	
--	--

DB 540 W / 260899

 Vos références pour ce dossier :  
 (facultatif)

OA03025/DBA

**6 MANDATAIRE**

Nom

ALLAB

Prénom

Myriam

Cabinet ou Société

L'ORÉAL

N° de pouvoir permanent et/ou  
de lien contractuel

Adresse

Rue

6 rue Bertrand Sincholle

Code postal et ville

92585

CLICHY Cedex

N° de téléphone (facultatif)

01.47.56.86.81

N° de télécopie (facultatif)

01.47.56.73.88

Adresse électronique (facultatif)

**7 INVENTEUR (S)**

Les inventeurs sont les demandeurs

☐ Oui☒ Non

Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée

**8 RAPPORT DE RECHERCHE**

Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)

Établissement immédiat  
ou établissement différé☒☐

Paiement échelonné de la redevance

Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques

☐ Oui☒ Non**9 RÉDUCTION DU TAUX  
DES REDEVANCES**

Uniquement pour les personnes physiques

☐ Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition)☐ Requête antérieurement à ce dépôt (joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence):Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite»,  
indiquez le nombre de pages jointes**10 SIGNATURE DU DEMANDEUR  
OU DU MANDATAIRE  
(Nom et qualité du signataire)**

Myriam ALLAB

30 Janvier 2003

VISA DE LA PRÉFECTURE  
OU DE L'INPI

M. ROCHET

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.  
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

La présente invention se rapporte à une composition comprenant une dispersion, dans une phase aqueuse externe, de vésicules formées par des phases lamellaires lipidiques séparées les unes des autres par des couches hydrophiles, lesdites phases lamellaires comprenant au moins un lipide amphiphile et au moins un dérivé de la famille du  
5 céramide 7 et/ou du céramide 5.5 inclus dans lesdites phases lamellaires lipidiques.

L'invention se rapporte également à l'utilisation de la dite composition pour renforcer la fonction barrière des épidermes humains normaux, ou améliorer la fonction barrière d'un  
10 épiderme présentant un déficit même léger en céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine, notamment les peaux sèches et les peaux reconstruites ou équivalents de peau.

La peau humaine est constituée de deux compartiments à savoir un compartiment profond, le derme, et un compartiment superficiel, l'épiderme.

15 L'épiderme est en contact avec l'environnement extérieur. Son rôle consiste à protéger l'organisme de la déshydratation et des agressions extérieures, qu'elles soient chimiques, mécaniques, physiques ou infectieuses.

L'épiderme humain naturel est composé principalement de trois types de cellules qui sont  
20 les kératinocytes, très majoritaires, les mélanocytes et les cellules de Langerhans. Chacun de ces types cellulaires contribue par ses fonctions propres au rôle essentiel joué dans l'organisme par la peau.

Les cellules constituant l'épiderme sont délimitées par un domaine lipidique. Au cours de  
25 la différenciation, les phospholipides dont le rôle consiste à élaborer la structure fluide des membranes cellulaires des couches vivantes de l'épiderme, sont peu à peu remplacés par un mélange composé en majeure partie d'acides gras, de cholestérol et de sphingolipides.

30 Ces lipides sont organisés en phase cristal liquide lamellaire spécifiques dont l'intégrité dépend non seulement de la qualité des fractions présentes mais aussi de leur proportion respective. Cette structure lamellaire des lipides du domaine lipidique de l'épiderme est responsable de la fonction barrière épidermique.

35 Les lipides épidermiques sont synthétisés principalement dans l'épiderme vivant. Ils sont principalement constitués de phospholipides, de céramides (ou sphingolipides), de cholestérol, d'acides gras libres, de triglycérides, d'esters du cholestérol et d'alcanes.

Les céramides sont un des constituants essentiels des lipides épidermiques, permettant d'assurer en partie, la structure cristal liquide lamellaire de ceux ci, mais aussi la fonction barrière de l'épiderme.

5

Les céramides sont composés d'une base sphingoïde qui peut être de quatre types, sphinganine, sphingénine, phytosphingosine et 6-hydroxy-4-sphingénine, et d'un acide gras qui peut être saturé,  $\alpha$  hydroxylé ou  $\omega$  estérifié. Les différentes combinaisons possibles entre bases et acides gras conduisent à une dizaine de céramides répertoriés par Robson, K.J.; Stewart, M.E.; Michelsen, S.; Lazo, N.D.; Downing, D.T., 6-hydroxy-4-sphingénine in human epidermal ceramides, dans *J. Lipid Res.* 1994 35 :2060-2068; et Chopart M., Castiel-Higounenc I., Arbey E., Guey C., Gaetani Q., Schmidt R., The Normal Human stratum corneum: a new ceramide profile, Perspectives in Percutaneous Penetration, 8th International Conference, Antibes Juan-Les Pins – France, April 2-6, 2002.

15

Il est connu de l'art antérieur que les peaux atopiques, xérotiques, et âgées peuvent être liées à une diminution de la synthèse des céramides 1 et/ou 3.

On peut citer par exemple les documents suivants:

20

- Imokawa *et al.* dans *J Invest Dermatol*, 96 (4) : 523-6, 1991 décrivent que les céramides interviennent dans la fonction barrière et que leur synthèse, en particulier celle du céramide 1, est diminuée dans le cas des peaux atopiques et xérotiques.
- Di Nardo *et al.* dans *Acta Derm Venereol*, 78 (1) : 27-30, 1998) décrivent la dermatite atopique comme une peau facilement irritable et sèche, dans laquelle la fonction barrière est altérée. Les auteurs ont montré qu'une diminution de la synthèse des céramides 1 et 3 peut être la cause de la peau sèche et de l'altération de la fonction barrière dans la dermatite atopique;
- Rogers *et al.* dans *Arch. Dermatol. Res.* 288 :765-770, 1996 décrivent une diminution de la synthèse des céramides, en particulier du céramide 1, ce qui contribue, dans les peaux âgées, à une perturbation de la fonction barrière et à la xérose, particulièrement durant les mois d'hiver.
- Rogers *et al.* dans *J. Invest. Dermatol.* 100 :510, 1993 décrivent que la structure multicouche lipidique des peaux sèches est perturbée, et que cette perturbation est accompagnée d'une augmentation des acides gras libres et d'une diminution des céramides.

25

30

35

Afin d'améliorer la peau âgée, la peau sèche et la sensibilité cutanée on connaît déjà des compositions, contenant un précurseur de la synthèse des céramides choisi parmi : les bases sphinganine, shingosine, les amides des acides gras et de la vitamine B<sub>3</sub> comme stimulateur de la synthèse des céramides (WO99/47114) et des compositions contenant  
5 contenant un intermédiaire des voies de synthèse ou précurseur des céramides choisi parmi les acides gras, les base sphinganine et sphingosine. et de la vitamine A comme stimulateur de la synthèse des céramides (WO94/23694).

10 M. Ponc et al. dans Skin Pharmacol 1990; 3: pp.126-135 décrivent par ailleurs que les modèles de peaux reconstruites présentent généralement une fonction barrière déficiente. Cette déficience est en grande partie due à d'importantes modifications du profil céramidique de ce modèle qui ont été observées par rapport à un épiderme humain normal.

15 Enfin, Il est connu du document FR 2 811 556 d'utiliser de la 6-hydroxy-4-sphingénine pour renforcer la barrière lipidique de l'épiderme, notamment de la peau sèche et/ou rugueuse et/ou abîmée, et/ou rétablir ou maintenir l'intégrité du stratum corneum, et/ou améliorer l'aspect de surface et/ou l'hydratation de la peau, et/ou protéger la peau, notamment les peaux sèches et rugueuses, et/ou comme agent de nutrition essentiel  
20 pour les matières kératiniques (peau, cheveu, cil, ongle), et/ou renforcer la barrière lipidique de la peau reconstruite, ou équivalent de peau et/ou améliorer et/ou maintenir le contenu lipidique de l'épiderme humain, *in vivo* et *in vitro*, et/ou améliorer la qualité et les propriétés telles que le contenu en lipides et/ou propriété barrière, des épidermes reconstruits et/ou des cultures de cellules épidermiques.

25

Toutefois, en utilisant de la 6-hydroxy-4-sphingénine on ne peut contrôler la nature du céramide qui va être obtenu *in situ* suite à son association avec un acide gras au niveau de l'épiderme. La 6-hydroxy-4-sphingénine est en effet la base sphingoïde constitutive de plusieurs céramides: céramides STAR, 4, 5.5 et 7 ("The Normal Human stratum  
30 corneum: a new ceramide profile" M. Chopart et al. Perspectives in Percutaneous Penetration, 8th International Conference Antibes Juan-Les Pins, France April 2-6, 2002 et le document JP2000/143,598 de Kanebo).

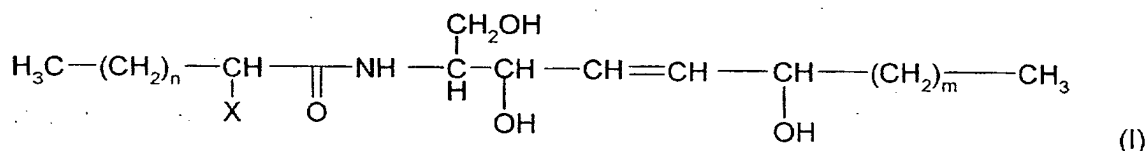
Il a maintenant été trouvé qu'une composition à base de vésicules lamellaires lipidiques  
35 incorporant au moins un dérivé de la famille du céramide 7 et/ou du céramide 5.5 permet d'améliorer la fonction barrière d'un épiderme présentant un déficit en céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine. Ceci est particulièrement avantageux car il a été montré dans

le cadre de l'invention que les peaux sèches et les peaux reconstruites (étude réalisée sur le modèle EPISKIN™) présentent un déficit en céramides les plus polaires qui se traduit par un déficit en bases sphingoïdes 6-hydroxy-4-sphingénine (appelée aussi sphingosine).

5

Un objet de la présente invention se rapporte à une composition comprenant une dispersion, dans une phase aqueuse externe, de vésicules formées par des phases lamellaires lipidiques séparées les unes des autres par des couches hydrophiles, lesdites phases lamellaires comprenant au moins un lipide amphiphile, et au moins un dérivé de

10 formule (I) suivante, inclus dans lesdites phases lamellaires lipidiques,



dans laquelle :

- 15 - X représente un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxyle (OH);  
avantageusement un groupement hydroxyle ;
- n est compris entre 19 et 29 carbones, de préférence entre 21 et 27 carbones,  
avantageusement égal à 21, 22 ou 23 carbones;
- 20 - m est compris entre 9 et 19 carbones, de préférence entre 9 et 15 carbones,  
avantageusement égal à 11, 12 ou 13 carbones.

Les dérivés de céramide 5.5 de formule (I) sont ceux pour lesquels X représente un groupement hydrogène.

25 Les dérivés de céramide 7 de formule (I) sont ceux pour lesquels X représente un groupement hydroxyle.

Le céramide 7, tel que décrit par Robson *et al.*, dans J. Lipid Res. 1994 35 :2060-2068, correspondant au composé de formule (I) pour lequel n égal à 21 et m égal à 11, est particulièrement préféré suivant l'invention.

30

La composition suivant l'invention peut être utilisée de manière toute particulière pour le soin de la peau. Notamment, les compositions selon l'invention peuvent permettre d'améliorer la fonction barrière des peaux sèches, des peaux rugueuses et/ou abîmées et/ou âgées et/ou sensibles et/ou atopiques, des peaux reconstruites ou équivalents de



peaux, ainsi que tout épiderme présentant un déficit même léger en céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine ou de renforcer encore d'avantage la fonction barrière des peaux humaines normales.

- 5 Un autre objet de l'invention se rapporte donc à l'utilisation de la dite composition pour :
- renforcer la fonction barrière des épidermes humains normaux, et/ou
  - renforcer la fonction barrière des peaux reconstruites ou équivalents de peaux, avantageusement la peau reconstruite est le modèle EPISKIN™, et/ou
  - améliorer la fonction barrière d'un épiderme présentant un déficit, même léger, en
- 10 céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine, de préférence des peaux sèches, des peaux rugueuses et/ou abîmées et/ou âgées et/ou sensibles, et/ou
- rétablir ou maintenir l'intégrité du stratum corneum, et/ou
  - améliorer l'aspect de surface et/ou l'hydratation de la peau, et/ou
  - améliorer et/ou maintenir le contenu lipidique de l'épiderme humain, *in vivo* et *in vitro*,
- 15 et/ou
- améliorer la qualité et les propriétés telles que le contenu en lipides et/ou propriété barrière, des épidermes reconstruits et/ou des cultures de cellules épidermiques.

Un autre objet de l'invention se rapporte encore à l'utilisation de la composition selon

20 l'invention pour la fabrication d'une composition destinée au traitement des peaux atopiques.

Il est bien établi que les peaux reconstruites représentent un modèle proche de la peau humaine. Dès lors, une composition suivant l'invention, capable d'augmenter la fonction

25 barrière des peaux reconstruites, trouve également un intérêt pour les épidermes humains normaux, ainsi que pour tout épiderme présentant un déficit même léger en céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine notamment des épidermes des peaux sèches et/ou rugueuses et/ou abîmées et/ou âgées et/ou sensibles, et/ou des peaux atopiques, en maintenant ou en rétablissant un profil céramidique tel qu'il permet d'augmenter ou de

30 maintenir leur fonction barrière.

Un autre objet de l'invention se rapporte à un procédé de traitement cosmétique d'embellissement ou d'hydratation de la peau humaine, caractérisé à ce qu'il consiste à

35 appliquer topiquement sur la peau une composition telle que précédemment définie.

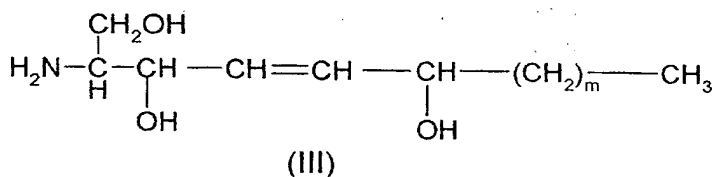
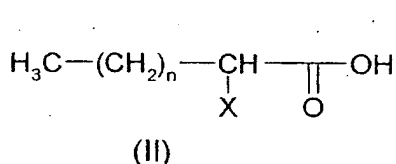
Les dérivés de formule (I) suivant l'invention peuvent être isolés par CCM à partir de prélèvements lipidiques réalisés par des méthodes non invasives sur des volontaires

sains suivant une méthode bien connue de l'homme du métier. Ces prélèvements lipidiques sont ensuite soumis à un traitement préparatif et analytique permettant de d'isoler les dérivés de formule (I) des autres lipides et de les purifier. Ces méthodes sont par exemple décrites dans le document JP2000/143,598 ou M. Chopart *et al.*

5 Prospectives in Percutaneous Penetration, 8th International Conference Antibes Juan-Les Pins, France April 2-6, 2002 et le document JP2000/143,598 de Kanebo).

Les dérivés de formule (I) peuvent être également préparés selon des procédés de synthèse organique classique, par exemple par une réaction de condensation entre un

10 acide gras de formule (II) et une base de formule (III), de préférence la base 6-hydroxy-4-sphingénine.



15 X, n et m conservent les définitions données précédemment.

La base 6 hydroxy-4-sphingénine peut être préparée selon des procédés de synthèse décrits et bien connus de l'homme du métier, par exemple tels que décrits ou inspirés de "Mendeleev, Commun. 108-110, 1992" ou "Tetrahedron Letters, 34, n°7, 1191-1194,

20 1993".

Les acides gras sont largement disponibles commercialement.

Une autre méthode de synthèse organique classique, décrite dans le document JP2000/143,598, consiste en une réaction d'oxydation en position 6 de la base à partir d'un précurseur non oxydé.

25 Par vésicule ou dispersion vésiculaire on entend une dispersion de lipides amphiphiles formant au contact de l'eau ou d'un milieu hydrophile, des particules dont le cœur est hydrophile (eau ou mélange hydrophile) et dont la paroi est constituée de bicouches de type cristal liquide lamellaire. Ces vésicules sont communément appelées Liposomes. Ils

30 sont principalement constitués de phospholipides, naturels ou synthétiques, hydrogénés ou non. Les Niosomes, quant à eux, sont constitués de tensioactifs non ioniques, éventuellement associés à du cholestérol et/ou un tensioactif ionique.

Les vésicules selon l'invention sont formées par, ou comprennent, de un à vingt cinq feuillets de phases lamellaires sensiblement concentriques de type bimoléculaires.

5 Les vésicules suivant l'invention peuvent être soit des niosomes du type de ceux décrits dans les demandes EP 0 958 856, EP 0 582 503, EP 0 455 528, EP 0 043 327, soit des liposomes de type classique. Les dérivés de formule (I) suivant l'invention deviennent, dans ce type de structure, l'un des constituants des phases lamellaires.

10 Le taux de dérivé de formule (I) va de 0.001% à 30%, préférentiellement 0.001% à 10%, avantageusement de 0.001% à 5% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules.

15 Le rapport en poids entre la quantité de phase lipidique et la quantité de phase aqueuse de la dispersion est compris entre 1/1000 et 300/1000.

Les dispersions vésiculaires selon l'invention peuvent être préparées suivants de nombreux procédés bien connus de l'homme du métier.

20 Par exemple, selon un premier procédé, on dissout tous les lipides amphiphiles, y compris les dérivés de formule (I) suivant l'invention, dans un solvant volatil un solvant, on forme un film mince lipidique sur les parois d'un flacon par évaporation du solvant, puis on reprend le film lipidique dans une solution aqueuse d'octylglucoside pour former des micelles mixtes octylglucoside/lipides vésiculaires. Cette solution est ensuite dialysée contre de l'eau distillée. Les liposomes se forment au fur et à mesure que l'octylglucoside est dialysé. Ce procédé est particulièrement adapté lorsque l'on ne dispose que d'une  
25 très faible quantité de dérivés de formule (I).

Cette méthode n'est cependant pas limitative et les autres méthodes utilisées pour former des dispersions vésiculaires (liposomes) sont envisageables (Bangham, par injection d'éthanol, par fusion, par « reverse phase »...). On peut encore citer la méthode décrite dans le brevet EP 0 582 503 B1.

30

Tel que mis en évidence sur les peaux reconstruites, la composition selon l'invention à base de vésicules lamellaires lipidiques incorporant d'au moins un dérivé de formule (I) permet d'améliorer la qualité de l'épiderme là où la simple application topique dudit dérivé de formule (I) n'apporte aucune amélioration desdits épidermes.

35

L'incorporation d'au moins un dit dérivé de formule (I) dans les phases lamellaires lipidiques permet obtenir l'effet recherché sur l'amélioration de la fonction barrière de

l'épiderme tout en prenant en compte les caractéristiques intrinsèques des dérivés de formule (I): grosses molécules, difficiles à formuler et à stabiliser.

Une dispersion vésiculaire selon l'invention permet en outre d'améliorer la biodisponibilité des dérivés de formule (I) au sein des couches de l'épiderme. Ladite biodisponibilité est améliorée car la formule de la dispersion vésiculaire suivant l'invention  
5 représente une formule proche des structures lipidiques multicouches de l'épiderme qui représentent la cible desdits dérivés de formule (I).

En outre, les dérivés de formule (I) présentent un caractère amphiphile marqué ce qui présente l'avantage de faciliter leur incorporation au sein de l'épiderme.

10

Ainsi, la dispersion vésiculaire suivant l'invention contenant au moins un dérivé de formule (I) permet de contrôler la nature du céramide qui est apporté spécifiquement au sein des structures lipidiques multicouches de l'épiderme.

15 Par biodisponibilité, on entend au sens de l'invention, la pénétration d'un actif dans la peau pour que celui-ci soit biologiquement disponible pour les éléments vivants de la peau, et en particulier l'épiderme. Ainsi, l'augmentation de la biodisponibilité d'un actif a pour effet d'augmenter le taux d'actif qui va arriver jusqu'à l'épiderme vivant.

20 En outre, les compositions selon l'invention permettent de rendre disponible le céramide 5.5 et/ 7 directement au sein de la couche cornée là où sans formulation adéquate, le dit céramide ne pénètre pas la couche cornée. Ainsi, les compositions selon l'invention permettent de combler directement dans la couche cornée un déficit en céramide 5.5 et/ou 7.

25

Les lipides amphiphiles constitutifs des dispersions vésiculaires suivant l'invention sont bien connus de l'homme du métier. Par exemple, ces lipides amphiphiles peuvent être à base de phospholipides naturels ou de synthèse, hydrogénés ou non et/ou de tensioactifs non ioniques pouvant être associés ou non à du cholestérol.

30 Les lipides amphiphiles ioniques, cationiques ou anioniques, ou non ioniques préférés suivant l'invention sont choisis parmi ceux décrits dans les documents EP 0 582 503 A1, FR 2 485 921, et FR 2 315 991 qui sont incorporés ici par référence.

Les lipides amphiphiles anioniques (B) préférés sont choisis dans le groupe formé par:

- 35
- les sels alcalins du dicétyl- et du dimyristylphosphate ;
  - les sels alcalins du cholestérol sulfate ;
  - les sels alcalins du cholestérol phosphate ;

l'épiderme tout en prenant en compte les caractéristiques intrinsèques des dérivés de formule (I): grosses molécules, difficiles à formuler et à stabiliser.

Une dispersion vésiculaire selon l'invention permet en outre d'améliorer la biodisponibilité des dérivés de formule (I) au sein des couches de l'épiderme. Ladite  
5 biodisponibilité est améliorée car la formule de la dispersion vésiculaire suivant l'invention représente une formule proche des structures lipidiques multicouches de l'épiderme qui représentent la cible desdits dérivés de formule (I).

En outre, les dérivés de formule (I) présentent un caractère amphiphile marqué ce qui présente l'avantage de faciliter leur incorporation au sein de l'épiderme.

10

Ainsi, la dispersion vésiculaire suivant l'invention contenant au moins un dérivé de formule (I) permet de contrôler la nature du céramide qui est apporté spécifiquement au sein des structures lipidiques multicouches de l'épiderme.

15 Par biodisponibilité, on entend au sens de l'invention, la pénétration d'un actif dans la peau pour que celui-ci soit biologiquement disponible pour les éléments vivants de la peau, et en particulier l'épiderme. Ainsi, l'augmentation de la biodisponibilité d'un actif a pour effet d'augmenter le taux d'actif qui va arriver jusqu'à l'épiderme vivant.

20 En outre, les compositions selon l'invention permettent de rendre disponible le céramide 5.5 et/ 7 directement au sein de la couche cornée là où sans formulation adéquate, le dit céramide ne pénètre pas la couche cornée. Ainsi, les compositions selon l'invention permettent de combler directement dans la couche cornée un déficit en céramide 5.5 et/ou 7.

25

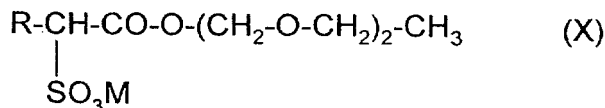
Les lipides amphiphiles constitutifs des dispersions vésiculaires suivant l'invention sont bien connus de l'homme du métier. Par exemple, ces lipides amphiphiles peuvent être à base de phospholipides naturels ou de synthèse, hydrogénés ou non et/ou de tensioactifs non ioniques pouvant être associés ou non à du cholestérol.

30 Les lipides amphiphiles ioniques, cationiques ou anioniques, ou non ioniques préférés suivant l'invention sont choisis parmi ceux décrits dans les documents EP 0 582 503 A1, FR 2 485 921, et FR 2 315 991.

Les lipides amphiphiles anioniques (B) préférés sont choisis dans le groupe formé par:

- 35
- les sels alcalins du dicétyl- et du dimyristylphosphate ;
  - les sels alcalins du cholestérol sulfate ;
  - les sels alcalins du cholestérol phosphate ;

- 5
- les lipoaminoacides et leurs sels tels que les acylglutamates mono- et di-sodiques comme le sel disodique de l'acide N-stéaroyl L-glutamique commercialisé sous la dénomination Acylglutamate HS21 par la société AJINOMOTO ;
  - les sels de sodium de l'acide phosphatidique ;
  - les phospholipides ;
  - les dérivés alkylsulfoniques notamment de formule (X) :



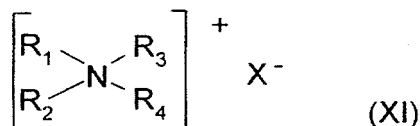
10 dans laquelle R représente des radicaux alkyle en C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>, en particulier les radicaux C<sub>16</sub>H<sub>33</sub> et C<sub>18</sub>H<sub>37</sub> pris en mélange ou séparément et M est un métal alcalin ou alcalino-terreux tel que le sodium ; et leurs mélanges.

Les lipides amphiphiles cationiques selon l'invention sont de préférence choisis dans le groupe formé par les sels d'ammonium quaternaire, les amines grasses et leurs sels.

15

Les sels d'ammonium quaternaires sont par exemple :

- ceux qui présentent la formule générale (XI) suivante;

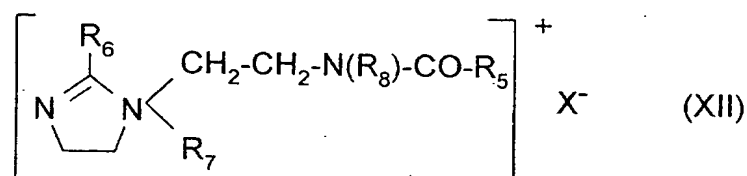


20 dans laquelle les radicaux R<sub>1</sub> à R<sub>4</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent un radical aliphatique, linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 30 atomes de carbone, ou un radical aromatique tel que aryle ou alkylaryle. Les radicaux aliphatiques peuvent comporter des hétéroatomes tels que notamment l'oxygène, l'azote, le soufre, les halogènes. Les radicaux aliphatiques sont par exemple choisis parmi les radicaux alkyle, alcoxy, polyoxyalkylène(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alkylamide, alkyl(C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub>)amido alkyle(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alkyl(C<sub>12</sub>-C<sub>22</sub>)acétate, hydroxyalkyle, comportant environ de 1 à 30 atomes de carbone; X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, phosphates, acétates, lactates, alkyl(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)sulfates, alkyl-ou-alkylarylsulfonates,

25

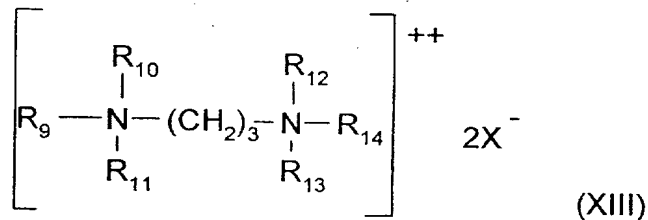
30

- les sels d'ammonium quaternaire de l'imidazolinium, comme par exemple celui de formule (XII) suivante:



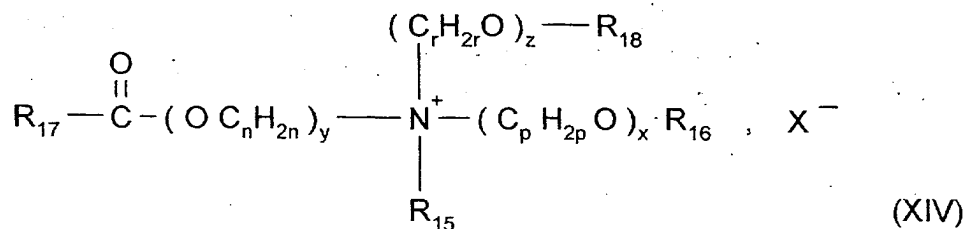
5 dans laquelle R<sub>5</sub> représente un radical alcényle ou alkyle comportant de 8 à 30 atomes de carbone par exemple dérivés des acides gras du suif, R<sub>6</sub> représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou un radical alcényle ou alkyle  
comportant de 8 à 30 atomes de carbone, R<sub>7</sub> représente un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, R<sub>8</sub> représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, phosphates, acétates, lactates, alkylsulfates, alkyl-ou-alkylarylsulfonates. De préférence, R<sub>5</sub> et R<sub>6</sub> désignent un  
10 mélange de radicaux alcényle ou alkyle comportant de 12 à 21 atomes de carbone par exemple dérivés des acides gras du suif, R<sub>7</sub> désigne méthyle, R<sub>8</sub> désigne hydrogène. Un tel produit est par exemple commercialisé sous la dénomination «REWOQUAT W 75» par la société REWO,

- les sels de diammonium quaternaire de formule (XIII) suivante;



15 dans laquelle R<sub>9</sub> désigne un radical aliphatique comportant environ de 16 à 30 atomes de carbone, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> et R<sub>14</sub>, identiques ou différents sont choisis parmi l'hydrogène ou un radical alkyle comportant de 1 à 4 atomes de carbone, et X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, acétates, phosphates, nitrates et méthylsulfates. De tels sels de diammonium quaternaire comprennent  
20 notamment le dichlorure de propanesuif diammonium.

- les sels d'ammonium quaternaire contenant au moins une fonction ester.
- 25 Les sels d'ammonium quaternaire contenant au moins une fonction ester utilisables selon l'invention sont par exemple ceux qui répondent à la formule (XIV) suivante :



dans laquelle :

- R<sub>15</sub> est choisi parmi les radicaux alkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et les radicaux hydroxyalkyles ou dihydroxyalkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> ;
- 5 - R<sub>16</sub> est choisi parmi :
  - le radical R<sub>19</sub>-CO- ;
  - les radicaux R<sub>20</sub> hydrocarbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>22</sub> linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
  - l'atome d'hydrogène ;
- 10 - R<sub>18</sub> est choisi parmi :
  - le radical R<sub>19</sub>-CO- ;
  - les radicaux R<sub>22</sub> hydrocarbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
  - l'atome d'hydrogène ;
- 15 - R<sub>17</sub>, R<sub>19</sub> et R<sub>21</sub>, identiques ou différents, sont choisis parmi les radicaux hydrocarbonés en C<sub>7</sub>-C<sub>21</sub>, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
- n, p et r, identiques ou différents, sont des entiers valant de 2 à 6 ;
- y est un entier valant de 1 à 10 ;
- x et z, identiques ou différents, sont des entiers valant de 0 à 10 ;
- 20 - X<sup>-</sup> est un anion simple ou complexe, organique ou inorganique ;

sous réserve que la somme x + y + z vaut de 1 à 15, que lorsque x vaut 0 alors R<sub>16</sub> désigne R<sub>20</sub> et que lorsque z vaut 0 alors R<sub>18</sub> désigne R<sub>22</sub>.

25 Les radicaux alkyles R<sub>15</sub> peuvent être linéaires ou ramifiés et plus particulièrement linéaires.

De préférence R<sub>15</sub> désigne un radical méthyle, éthyle, hydroxyéthyle ou dihydroxypropyle et plus particulièrement un radical méthyle ou éthyle.

Avantageusement, la somme x + y + z vaut de 1 à 10.

30 Lorsque R<sub>16</sub> est un radical R<sub>20</sub> hydrocarboné, il peut être long et avoir de 12 à 22 atomes de carbone ou court et avoir de 1 à 3 atomes de carbone.

Lorsque R<sub>18</sub> est un radical R<sub>22</sub> hydrocarboné, il a de préférence 1 à 3 atomes de carbone.



Avantageusement,  $R_{17}$ ,  $R_{19}$  et  $R_{21}$ , identiques ou différents, sont choisis parmi les radicaux hydrocarbonés en  $C_{11}$ - $C_{21}$ , linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés, et plus particulièrement parmi les radicaux alkyle et alcényle en  $C_{11}$ - $C_{21}$ , linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés.

5 De préférence,  $x$  et  $z$ , identiques ou différents, valent 0 ou 1.

Avantageusement,  $y$  est égal à 1.

De préférence,  $n$ ,  $p$  et  $r$ , identiques ou différents, valent 2 ou 3 et encore plus particulièrement sont égaux à 2.

10 L'anion est de préférence un halogénure (chlorure, bromure ou iodure) ou un alkylsulfate plus particulièrement méthylsulfate. On peut cependant utiliser le méthanesulfonate, le phosphate, le nitrate, le tosylate, un anion dérivé d'acide organique tel que l'acétate ou le lactate ou tout autre anion compatible avec l'ammonium à fonction ester.

L'anion  $X^-$  est encore plus particulièrement le chlorure ou le méthylsulfate.

15 On utilise plus particulièrement les sels d'ammonium de formule (XIV) dans laquelle :

- $R_{15}$  désigne un radical méthyle ou éthyle,

- $x$  et  $y$  sont égaux à 1 ;

- $z$  est égal à 0 ou 1 ;

- $n$ ,  $p$  et  $r$  sont égaux à 2 ;

20 -  $R_{16}$  est choisi parmi :

- le radical  $R_{19}$ -CO- ;

- les radicaux méthyle, éthyle ou hydrocarbonés en  $C_{14}$ - $C_{22}$  ;

- l'atome d'hydrogène ;

- $R_{18}$  est choisi parmi :

25 • le radical  $R_{21}$ -CO- ;

- l'atome d'hydrogène ;

-  $R_{17}$ ,  $R_{19}$  et  $R_{21}$ , identiques ou différents, sont choisis parmi les radicaux hydrocarbonés en  $C_{13}$ - $C_{17}$ , linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés et de préférence parmi les radicaux alkyles et alcényle en  $C_{13}$ - $C_{17}$ , linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés:

30

Avantageusement, les radicaux hydrocarbonés sont linéaires.

On peut citer par exemple les composés de formule (XIV) tels que les sels (chlorure ou méthylsulfate notamment) de diacyloxyéthyl diméthyl ammonium, de diacyloxyéthyl hydroxyéthyl méthyl ammonium, de monoacyloxyéthyl dihydroxyéthyl méthyl ammonium, de triacyloxyéthyl méthyl ammonium, de monoacyloxyéthyl hydroxyéthyl diméthyl

35

ammonium et leurs mélanges. Les radicaux acyles ont de préférence 14 à 18 atomes de carbone et proviennent plus particulièrement d'une huile végétale comme l'huile de palme ou de tournesol. Lorsque le composé contient plusieurs radicaux acyles, ces derniers peuvent être identiques ou différents.

5

Ces produits sont obtenus par exemple par estérification directe de la triéthanolamine, de la triisopropanolamine, d'alkyldiéthanolamine ou d'alkyldiisopropanolamine éventuellement oxyalkylénées sur des acides gras ou sur des mélanges d'acides gras d'origine végétale ou animale ou par transestérification de leurs esters méthyliques. Cette

10

estérification est suivie d'une quaternisation à l'aide d'un agent alkylant tel qu'un halogénure d'alkyle (méthyle ou éthyle de préférence), un sulfate de dialkyle (méthyle ou éthyle de préférence), le méthanesulfonate de méthyle, le paratoluènesulfonate de méthyle, la chlorhydrique du glycol ou du glycérol.

15

De tels composés sont par exemple commercialisés sous les dénominations DEHYQUART par la société HENKEL, STEPANQUAT par la société STEPAN, NOXAMIUM par la société CECA, REWOQUAT WE 18 par la société REWO-WITCO.

20

Les lipides amphiphiles non-ioniques (A) formant la membrane des vésicules suivant l'invention sont de préférence choisis dans le groupe formé par :

- les esters et/ou les éthers de polyol et d'acide gras, polyoxyéthylénés ou non ;
- les esters et/ou les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglycoside ;
- les phospholipides synthétiques ou naturels, hydrogénés ou non.

25

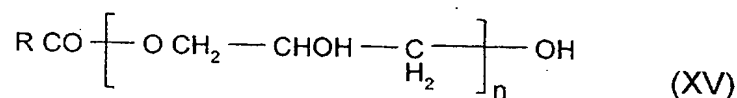
Les esters ou les éthers de polyol et d'acide gras sont de préférence choisis parmi les mélanges d'esters ou les mélanges d'éthers d'au moins un polyol choisi dans le groupe formé par le polyéthylèneglycol comportant de 1 à 60 unités oxyde d'éthylène, le sorbitane, le sorbitane portant 2 à 60 unités d'oxyde d'éthylène, le glycérol portant 2 à 30 unités d'oxyde d'éthylène, les polyglycérols comportant 2 à 15 unités glycérol, les

30

sucroses, les glucoses portant 2 à 30 unités oxyde d'éthylène, et au moins un acide gras comportant une chaîne alkyle en  $C_5$ - $C_{22}$ , saturée ou non saturée, linéaire ou ramifiée, le nombre de chaînes alkyle par groupe polyol étant compris entre 1 et 10.

35

Les esters de polyol et d'acides gras en  $C_5$ - $C_{22}$  particulièrement préférés sont ceux répondant à la formule (XV) suivante :



- où n est une valeur statistique et qui peut contenir des proportions diverses d'esters pour lesquels  $n = 1, n = 2, n = 3, n = 4$ , etc ; c'est aussi le cas des esters comportant plusieurs chaînes alkyle dans leur partie lipophile, tels que les cocoates, qui contiennent des chaînes alkyles en  $\text{C}_5\text{-C}_{22}$  ou les isostéarates où les chaînes alkyle sont en  $\text{C}_{17}$  sont un mélange complexe de formes isomères ; c'est également le cas des produits constitués par des mélanges de mono-, di-, tri- ou polyesters d'un même polyol.
- 10 Parmi les produits commerciaux utilisables selon l'invention et ayant la structure d'un mélange d'esters de polyol et d'acide gras en  $\text{C}_5\text{-C}_{22}$  tel que défini ci-dessus, on peut citer:
- les esters partiels de sorbitane (ou anhydride de sorbitol) et d'acide gras, vendus sous les dénominations commerciales "SPAN 20, 40, 60 et 80" par la Société "ICI" ;
  - 15 - l'isostéarate de sorbitane, vendu sous la dénomination commerciale "SI 10 R NIKKOL" par la Société "NIKKO" ;
  - le stéarate de sorbitane portant 4 unités oxyde d'éthylène, vendu sous la dénomination "TWEEN 61" par la Société "ICI" ;
  - le stéarate de polyéthylèneglycol à 8 unités oxyde d'éthylène vendu sous le nom
  - 20 "MYR J 45" par "ICI" ;
  - le monostéarate du polyéthylène glycol de formule (XVI) suivante:
- $$\text{HOCH}_2 - (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n \text{CH}_2\text{OH}$$
- (XVI)
- dans laquelle n est égal à 4, vendu sous la dénomination "MYS 4" par la Société "NIKKO" ;
- 25 - le stéarate de polyéthylèneglycol de poids moléculaire 400, qualité chimique ou qualité produite par biotechnologie, vendu par la Société "UNICHEMA" ;
  - le stéarate de diglycéryle portant 4 unités d'oxyde d'éthylène, vendu sous la dénomination "HOSTACERINE DGS" par la Société "HOESCHT" ;
  - le stéarate de tétraglycérol, vendu sous la dénomination "TETRAGLYN 1S" par la
  - 30 Société "NIKKO" ;
  - l'isostéarate de diglycéryle, vendu par la Société "SOLVAY" ;
  - le distéarate de diglycéryle, vendu sous la dénomination "EMALEX DSG 2" par la Société "NIHON" ;

- les mono-, di- et tri-palmitostéarate de sucrose, vendu sous les dénominations "F50, F70, F110 et F160 CRODESTA" par la Société "CRODA" ;
  - le mélange de mono- et di-palmitostéarate de sucrose, vendu sous la dénomination "GRILLOTEN PSE 141 G" par la Société "GRILLO" ;
  - 5    - le mélange de stéarate de sucrose et de cocoate de sucrose, vendu sous la dénomination "ARLATONE 2121" par la Société "ICI" ;
  - le distéarate de méthylglucose portant 20 unités oxyde d'éthylène, vendu sous la dénomination "GLUCAM E20 DISTEARATE" par la Société "AMERCHOL".
- 10    Les esters et les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside utilisés selon l'invention sont de préférence, soit des mélanges d'esters et/ou des mélanges d'éthers de différents acides gras d' $\alpha$ -butylglucoside dont les différentes chaînes grasses comportent, l'une par rapport à l'autre, un nombre d'atomes de carbone voisin (par exemple différent de 1 ou 2) soit des mélanges de mono-, di- tri- ou polyesters et/ou des mélanges de mono-, di- tri-
- 15    polyéthers d'un même acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside.

Les esters et les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside utilisé(s) selon l'invention comporte(nt) de préférence une chaîne grasse ayant de 8 à 24 atomes de carbone, plus préférentiellement de 12 à 22 atomes de carbone et plus particulièrement de 14 à 18

20    atomes de carbone.

On peut citer par exemple, les esters et les éthers d'acide laurique ( $C_{12}$ ), myristique ( $C_{14}$ ), palmitique ( $C_{16}$ ), stéarique ( $C_{18}$ ), béhénique ( $C_{22}$ ) d' $\alpha$ -butylglucoside.

- 25    On utilise plus particulièrement un mélange de mono- et de diester d'acide palmitique d' $\alpha$ -butylglucoside obtenu selon le procédé de fabrication enzymatique décrit dans les vésicules lipidiques conformes à l'invention.

Les esters et les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside conformes à l'invention peuvent

30    être préparés à partir d' $\alpha$ -butylglucoside obtenu selon le procédé de fabrication enzymatique décrit dans la demande de brevet FR-A-2680373 qui consiste à mettre en contact le butanol avec de l'amidon, des maltodextrines ou du maltose en présence d'une préparation enzymatique purifiée présentant une activité d' $\alpha$ -transglucosylation. Les esters et les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside peuvent être synthétisés en faisant

35    réagir l'acide gras ou le mélange d'acide gras correspondants avec l' $\alpha$ -butylglucoside selon des procédés classiques.

Les phospholipides synthétiques ou naturels, hydrogénés ou non préférés suivant l'invention sont choisis parmi la lécithine, de préférence hydrogénée, associé soit à du cholestérol et éventuellement à un tensioactif ionique, et un phytostérol oxyéthyléné  
5 comprenant de 2 à 50 motifs oxyde d'éthylène.

A cette liste, il convient également d'ajouter les lipides amphiphiles décrits dans les documents FR 2 315 991 et FR 2 485 921 qui sont incorporés ici par référence.

10 De façon connue, on peut utiliser pour la fabrication des dispersions vésiculaires suivant l'invention des mélanges de lipides amphiphiles ioniques, des mélanges de lipides amphiphiles non ioniques et des mélanges de ces deux types de lipides.

Selon un mode préférentiel de l'invention, le rapport en poids entre la quantité de lipide  
15 amphiphile non-ionique (A) et de lipide amphiphile ionique (B) est compris entre 50/1 et 50/25.

On peut, de façon connue, incorporer dans la phase lipidique constituant la membrane lipidique des vésicules à cœur aqueux de l'invention, au moins un additif qui a pour  
20 fonction principale de diminuer la perméabilité des vésicules, de prévenir leur floculation et leur fusion et d'augmenter le taux d'encapsulation.

Selon un mode préférentiel de l'invention, on peut ajouter à la phase lipidique au moins un additif choisi, de préférence, dans le groupe formé par :

- 25
- les stérols et notamment les phytostérols et le cholestérol,
  - les alcools et diols à longue chaîne,
  - les amines à longue chaîne et leurs dérivés ammonium quaternaire.

Ces additifs peuvent éventuellement avoir une activité cosmétique et/ou dermatopharmaceutique. C'est, par exemple, le cas du cholestérol.

30 Leur taux va de 0 à 50% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules à cœur aqueux.

Dans la composition selon l'invention, les vésicules à cœur aqueux ont de préférence un diamètre moyen allant de 10 à 5 000 nm.

35

Avantageusement, la dispersion vésiculaire suivant l'invention peut également contenir au moins un autre céramide choisi parmi les céramides STAR, 1, 2, 2.5, 3, 4, 5 et/ou 6

Les phospholipides synthétiques ou naturels, hydrogénés ou non préférés suivant l'invention sont choisis parmi la lécithine, de préférence hydrogénée, associé soit à du cholestérol et éventuellement à un tensioactif ionique, et un phytostérol oxyéthyléné  
5 comprenant de 2 à 50 motifs oxyde d'éthylène.

A cette liste, il convient également d'ajouter les lipides amphiphiles décrits dans les documents FR 2 315 991 et FR 2 485 921.

10 De façon connue, on peut utiliser pour la fabrication des dispersions vésiculaires suivant l'invention des mélanges de lipides amphiphiles ioniques, des mélanges de lipides amphiphiles non ioniques et des mélanges de ces deux types de lipides.

Selon un mode préférentiel de l'invention, le rapport en poids entre la quantité de lipide  
15 amphiphile non-ionique (A) et de lipide amphiphile ionique (B) est compris entre 50/1 et 50/25.

On peut, de façon connue, incorporer dans la phase lipidique constituant la membrane  
lipidique des vésicules à cœur aqueux de l'invention, au moins un additif qui a pour  
20 fonction principale de diminuer la perméabilité des vésicules, de prévenir leur floculation et leur fusion et d'augmenter le taux d'encapsulation.

Selon un mode préférentiel de l'invention, on peut ajouter à la phase lipidique au moins un additif choisi, de préférence, dans le groupe formé par :

- 25
- les stérols et notamment les phytostérols et le cholestérol,
  - les alcools et diols à longue chaîne,
  - les amines à longue chaîne et leurs dérivés ammonium quaternaire.

Ces additifs peuvent éventuellement avoir une activité cosmétique et/ou dermopharmaceutique. C'est, par exemple, le cas du cholestérol.

30 Leur taux va de 0 à 50% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules à cœur aqueux.

Dans la composition selon l'invention, les vésicules à cœur aqueux ont de préférence un diamètre moyen allant de 10 à 5 000 nm.

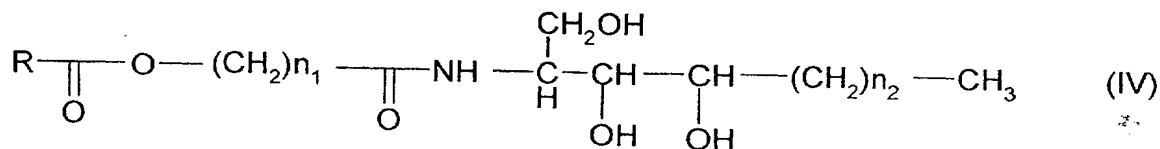
35

Avantageusement, la dispersion vésiculaire suivant l'invention peut également contenir au moins un autre céramide choisi parmi les céramides STAR, 1, 2, 2.5, 3, 4, 5 et/ou 6

(tels que décrits dans le document "The Normal Human stratum corneum: a new ceramide profile" M. Chopart *et al.* Prospectives in Percutaneous Penetration, 8th International Conference Antibes Juan-Les Pins, France April 2-6, 2002), avantageusement les céramides STAR et/ou 4.

- 5 Le taux de céramide additionnel va de 0.001% à 30%, préférentiellement 0.001 à 10% et plus particulièrement 0.001% à 5% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules.

- 10 Par céramide 2.5 on entend un composé dont la constitution peut être représentée par la formule (IV) suivante :

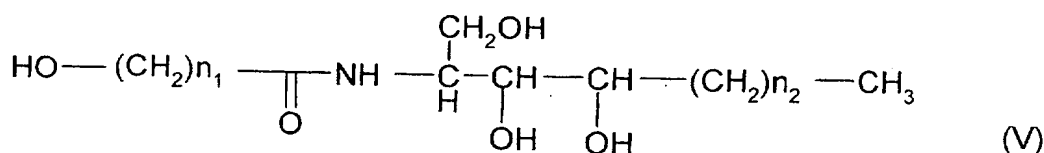


- 15 dans laquelle  $n_1$  est compris entre 22 et 35, de préférence entre 25 et 33, de préférence encore entre 26 et 29 et  $n_2$  est compris entre 11 et 21, de préférence entre 13 et 17, de préférence encore entre 13 et 15, et RCO désigne un résidu linoléoyle. La valeur de  $n_1$  est de préférence égale à 29.

- 20 Les composés de formule (IV) peuvent être isolés à partir de prélèvements lipidiques réalisés par des méthodes non invasives sur des volontaires sains. Ces prélèvements lipidiques sont ensuite soumis à un traitement préparatif et analytique permettant de séparer et d'identifier les familles céramidiques.

- 25 Une autre source potentielle des composés de formule (IV) réside dans l'utilisation d'enzymes telles que des trans-acylases agissant sur des précurseurs ou des modulateurs de ces enzymes.

Les précurseurs sont notamment des composés de formule (V) suivante :



dans laquelle  $n_1$  est compris entre 22 et 35, de préférence entre 25 et 33, de préférence encore entre 26 et 29 et  $n_2$  est compris entre 11 et 21, de préférence entre 13 et 17, de préférence encore entre 13 et 15.

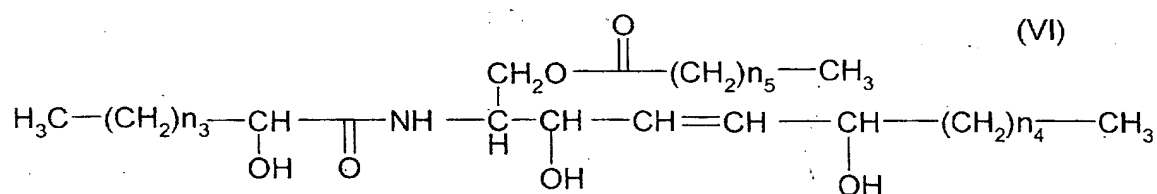
La valeur de  $n_1$  est de préférence égale à 29.

5

Ces précurseurs correspondent aux composés de formule (IV) non estérifiés sur l'OH terminal de l'acide gras hydroxylé.

Par céramide STAR on entend un composé dont la constitution peut être représentée par

10 la formule (VI) suivante :

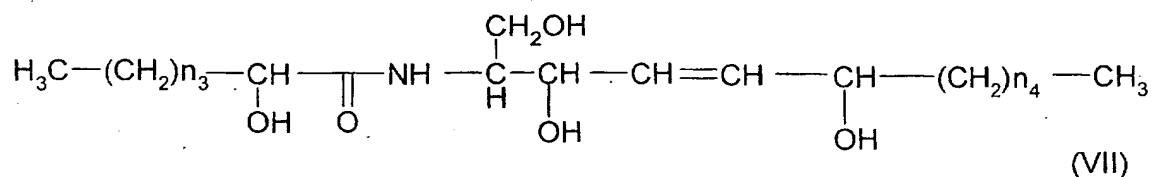


15 dans laquelle  $n_3$  est compris entre 17 et 35, de préférence entre 21 et 30, préférentiellement entre 23 et 28, de préférence encore est égal à 25, 26 ou 27,  $n_4$  est compris entre 9 et 18, de préférence entre 11 et 15, préférentiellement entre 11 et 13, de préférence encore égal à 11, et  $n_5$  est compris entre 12 et 18, de préférence entre 14 et 16, de préférence égal à 14.

20 Les composés de formule (VI) peuvent être isolés à partir de prélèvements lipidiques réalisés par des méthodes non invasives sur des volontaires sains. Ces prélèvements lipidiques sont ensuite soumis à un traitement préparatif et analytique permettant de séparer et d'identifier les familles céramidiques.

25 Une autre source potentielle des composés formule (VI) réside dans l'utilisation d'enzymes telles que des trans-acylases agissant sur des précurseurs ou des modulateurs de ces enzymes.

Les précurseurs sont notamment des composés de formule (VII)



30



dans laquelle  $n_3$  est compris entre 17 et 35, de préférence entre 21 et 30, préférentiellement entre 23 et 28, de préférence encore entre 25 et 27,  $n_4$  est compris entre 9 et 18, de préférence entre 11 et 15, , préférentiellement entre 11 et 13, de  
5 préférence encore égale à 11.

Ces précurseurs correspondent aux composés de formule (VI) non estérifiés en position 1.

Avantageusement, la dispersion vésiculaire suivant l'invention peut également contenir au moins un actif additionnel.

- 10 - Si les actifs sont hydrosolubles, on les introduit dans la phase hydrophile encapsulée des vésicules.
- Si les actifs sont liposolubles, on les introduit dans la phase lipidique constituant la membrane.
- Si les actifs sont amphiphiles, ils se répartissent entre la phase lipidique et la phase  
15 hydrophile encapsulée avec un coefficient de partage, qui varie selon la nature de l'actif amphiphile et les compositions respectives de la phase lipidique et de la phase hydrophile encapsulée.

Comme actifs, on peut utiliser au moins un composé choisi parmi : les agents  
20 desquamants ; les agents hydratants ; les agents dépigmentants ou propigmentants ; les agents anti-glycation ; les inhibiteurs de NO-synthase ; les agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou épidermiques et/ou empêchant leur dégradation ; les agents stimulant la prolifération des fibroblastes et/ou des kératinocytes ou stimulant la différenciation des kératinocytes ; les agents myorelaxants ; les agents tenseurs ; les  
25 agents anti-pollution et/ou anti-radicalaire ; les agents agissant sur la microcirculation ; les agents agissant sur le métabolisme énergétique des cellules ; et leurs mélanges.

Avantageusement, la dispersion vésiculaire suivant l'invention peut également contenir au moins un autre composé permettant d'améliorer la fonction barrière. Ce dérivé est  
30 choisi parmi l'acide ascorbique (vitamine C) ou ses analogues, les lécithines, les glycosphingolipides, les phospholipides, le cholestérol et ses dérivés, les phytostérols (stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol, campestérol), les acides gras essentiels, le 1-2 diacylglycérol, la 4-chromanone, les triterpènes pentacycliques tels que l'acide ursolique, la vaseline et la lanoline.

35 De préférence, le composé permettant d'améliorer la fonction barrière est l'acide ascorbique peut être sous forme D ou L, avantageusement sous forme L ou ses

analogues choisis parmi ses sels, de préférence l'ascorbate de sodium, l'ascorbylphosphate de magnésium ou de sodium, ses esters, de préférence ses esters acétique, propionique ou palmitique, ou ses sucres, de préférence l'acide ascorbique glycosylé.

5

De façon connue, la composition selon l'invention peut contenir également des adjuvants habituels dans le domaine cosmétique, tels que les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les absorbeurs d'odeur, les neutralisants, les filtres solaires, les polymères, les émulsionnants et les coémulsionnants, et les matières colorantes.

10

La composition suivant l'invention peut être introduite dans tout support cosmétique se présentant sous toutes les formes galéniques classiquement utilisées dans le domaine cosmétique: il peut s'agir notamment d'une solution aqueuse éventuellement gélifiée, d'une dispersion du type lotion éventuellement biphasée, d'une émulsion obtenue par dispersion d'une phase grasse dans une phase aqueuse (H/E) ou inversement (E/H), ou d'une émulsion triple (E/H/E ou H/E/H). Ces formes sont préparées selon les méthodes usuelles. On préfère utiliser selon cette invention un support cosmétique sous la forme d'une émulsion huile-dans-eau.

15

20 L'invention est illustrée plus en détail dans les exemples qui suivent. Ces exemples ne sauraient limiter en aucune façon la portée de l'invention.

Les résultats des études réalisées par la demanderesse sont présentés en annexe:

La Figure 1 présente une comparaison des profils relatifs des bases sphingoides issues des céramides de Stratum Humain Normal et EPISKIN™.

25

**EXEMPLE 1 : Préparation du céramide 7 de formule (I) par CCM à partir de stratum corneum humain**

30

**Etape 1: Extraction par turbine**

Echantillon de départ : Epiderme d'un volontaire sain

Action : passage de solvants organiques (le plus souvent un mélange d'hexane/éthanol 2/3) au travers du stratum corneum pour entraîner les lipides grâce à une turbine.

35

Echantillon final : Lipides épidermiques sous forme solvatée

**Étape 1 bis: Extraction à partir de stripping vernis**

Echantillon de départ : Epiderme d'un volontaire sain

Action : application d'une bande adhésive -verniss+nylon- sur la peau de volontaires, puis arrachage de l'ensemble entraînant par la même une partie du stratum. Les strips sont ensuite mis en présence de solvants (de type Chloroforme Méthanol (2/1) sous agitation.

Echantillon final : Lipides épidermiques sous forme solvatée

**Etape 2: Isolement des céramides 7**

Echantillon départ : Lipides épidermiques sous forme solvatée (lipides totaux)

10 Action : Séparation des familles céramidiques

• Après concentration si nécessaire du pool lipidique ainsi obtenu (la concentration étant obtenue par évaporation d'une partie des solvants) , le pool de lipides est déposé sur une plaque de silice Whatman LK5 de 20x20 cm ou 5721 Merk et on procède à 2 éluions successives avec un mélange chloroforme /méthanol /acide acétique dans les rapports 190/5/1 pour la première élution et 190/9/1 pour la seconde élution.

15 • Les classes de céramides sont repérées en ultraviolet (à 254 nm) après vaporisation sur la plaque d'une solution de primuline à 5 mg/100 ml (révélation de la laque). Cette observation permet de délimiter une dizaine de zones contiguës sur la plaque de silice numérotées par exemple de 1 à 10 en allant de la zone la plus éluee à la zone la moins éluee. La silice de chacune de ces zones est grattée, récupérée et extraite (pour en extraire les céramides) à plusieurs reprises avec un mélange de chloroforme /méthanol (2/1). Les phases organiques sont rassemblées et lavées à l'eau puis évaporées à sec pour obtenir les composés céramidiques purs. Ces céramides (regroupés donc par bandes de migration) sont alors remis en solution dans un mélange chloroforme/méthanol (2/1). Une faible proportion de chaque échantillon est prélevée pour identification analytique (voir analyse structurale des composés céramidiques paragraphe suivant) du contenu en céramides afin de déterminer la classe du céramide majoritaire et quelles sont les impuretés (autres céramides généralement). Il est ainsi possible d'identifier l'échantillon contenant le céramide 7, généralement mélangé avec du céramide 6 (impureté)

Echantillon final : Céramide 7 (+ Céramide 6 sous forme d'impuretés) solvate

**Etape 3: Purification de l'échantillon de céramide 7 si nécessaire**

35 Echantillon départ : Céramide 7 (+ Céramide 6 sous forme d'impuretés) solvate

Action : L'échantillon contenant le céramide 7 est alors purifié en répétant l'étape 2:

dépôt de l'échantillon; révélation, grattage de la silice et extraction des céramides, identification de la bande comprenant principalement le céramide 7 (analyse structurale finale).

Echantillon final : Céramide 7 de formule (I) purifié

5

Analyse structurale des composés céramidiques :

L'échantillon destiné à l'analyse est réparti en deux fractions.

10 On réalise une dérivation de la première fraction céramides au moyen du chlorure de benzoyle. Les dérivés benzoylés ainsi obtenus sont séparés en chromatographie liquide haute performance et injectés dans un spectrographe de masse en sortie de colonne par couplage HPLC-MS.

15 La deuxième fraction subit une hydrolyse alcaline pour libérer les bases sphingoïdes contenues dans les céramides. Les bases libérées sont dérivées à l'orthophtalaldéhyde avant d'être séparées en HPLC avec détection en fluorescence.

L'ensemble des résultats analytiques ainsi obtenu permet d'attribuer une structure moléculaire précise à chaque céramide présent dans l'échantillon.

20

**EXEMPLE 2: Préparation du céramide 5.5 par CCM à partir de stratum corneum humain**

La préparation du céramide 5.5 est identique à celle du céramide 7 de l'exemple 1 à la différence que la bande isolée après analyse structurale du contenu en céramides des  
25 différentes bandes de migration sera la bande contenant principalement du céramide 5.5, et à la différence que ce dernier est généralement associé à une plus grande quantité d'impuretés (céramides 5) et que son obtention sous une forme correctement purifiée nécessite éventuellement de renouveler une fois ou plus si nécessaire l'étape 3 de purification.

30

**EXEMPLE 3 : Evaluation de l'efficacité des dispersions vésiculaires suivant l'invention sur la fonction barrière des peaux reconstruites**

On prépare les deux formules suivantes:

35

Formule aux Niosomes sans céramide 7

Palmitate de sorbitan ( Span 40 commercialisé par Uniqema)

0.225%

Cholestérol		0.225%
N Stéaroyl L Glutamique acide disodique		0.050%
Propylène glycol		3.000%
Eau	qsp	100.000%

5

Formule aux niosomes contenant du céramide 7

Palmitate de sorbitane		0.2250%
Cholesterol		0.1250%
N stearoyl l glutamic acid disodium		0.0500%
Céramide 7		0.0315%
Eau distillée	qsp	100.0000%

10

Mode opératoire

15 Dans les 2 cas, les lipides sont associés préalablement en phase solvant méthanol/chloroforme (50/50 en poids). Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le film lipidique formé sur la paroi du ballon est alors solubilisé par une solution aqueuse d'octylglucoside (6% ) pour former des micelles mixtes Octylglucoside/Lipides vésiculaires. Cette solution est ensuite dialysée pendant 24h contre de l'eau distillée. Les liposomes se forment au fur et à mesure que

20 l'octylglucoside est dialysé.

Une étude est alors réalisée sur trois kits de douze puits contenant 1 cm<sup>2</sup> d'épiderme EPISKIN™ chacun.

Les différents traitements sont :

- 25 - un kit témoin c'est à dire non traité
- un kit placebo c'est à dire traité par une formule aux niosomes sans céramide 7
- un kit traité par le céramide 7 formulé au sein d'une formule aux niosomes (formule CER 7)

30 Les trois kits sont traités en topique : pour chaque type de traitement (à l'exception du kit témoin), deux microlitres de formule sont appliqués à la surface de chaque épiderme reconstruit. Le traitement est renouvelé deux fois à 48 H d'intervalle. Les épidermes sont ensuite prélevés, les surfaces lavées, et les lipides contenus dans chaque épiderme extraits. Les sphingolipides (céramides essentiellement) sont enfin quantifiés par analyse

35 de leur base sphingoïde.

Dans les conditions de traitements présentées ci dessus, les résultats montrent une augmentation sensible des bases 6-hydroxy-sphingénines retrouvées dans l'épiderme des modèles de peaux reconstruites EPISKIN™ traité par la formule aux niosomes contenant du céramide 7 par rapport à un épiderme non traité ou traité par le placebo comme le montre l'histogramme de la Figure 2.

La formulation du céramide 7 au sein d'une dispersion vésiculaire le stabilisant et le rendant biodisponible permet d'améliorer le profil céramidique des épidermes reconstruits du modèle EPISKIN™. Or, l'augmentation de la proportion de céramides à base 6-hydroxy-sphingénine grâce à l'augmentation de la proportion de céramide 7 dans le profil des modèles de peau reconstruite comme EPISKIN™ permettent de renforcer la fonction barrière du modèle.

Ce procédé permet donc, en rendant la fonction barrière des modèles de peau reconstruite plus proche de la fonction barrière de la peau humaine normale, d'améliorer celle-ci.

#### **EXEMPLE 4 : Effet du céramide 7 formulé dans un niosome suivant l'invention sur la fonction barrière d'épidermes reconstruits EPISKIN™**

Principe de la méthode d'une étude de pénétration: Evaluer l'état de la fonction barrière des épidermes reconstruits du modèle EPISKIN™ traités avec le céramide 7 dans une formule niosomes par voie topique, par une étude de pénétration de la caféine radio marquée sur cellules de diffusion en mode statique : la caféine radiomarquée, molécule amphiphile, pénètre plus ou moins à travers l'épiderme selon la qualité de celui ci; plus la molécule passe à travers, plus la fonction barrière est altérée.

Les traitements des épidermes reconstruits du modèle EPISKIN™ sont effectués entre le 8° et le 14° jour de culture par application à la surface des épidermes de 2 µl soit de la formule niosomes contenant le céramide 7, soit de la formule sans céramide 7 (appelé formule placebo ) comme proposées dans l'exemple 3.

Au 14 ° jour de culture et après stabilisation des modèles dans les cellules de diffusion, 90µL (322µL/cm<sup>2</sup>) de solution de caféine C<sup>14</sup> en excès (10mM en glycérol, 135µCi/mMol) sont appliqués en surface des épidermes. Après 16h00 de pénétration, l'excès est prélevé et récupéré. La peau est récupérée à son tour, les tissus digérés. La radioactivité du milieu, puis de la peau, puis de l'excès sont alors comptabilisés au compteur à scintillation.

Les quantités totales de radioactivité ainsi récupérées sont ensuite ramenées à une même valeur expérimentale de dépôt afin de normaliser ces derniers et ainsi pouvoir mieux comparer l'effet des différents traitements. De plus, Pour avoir un résultat le plus représentatif possible de l'étude, les valeurs suivantes ont été couplées : Excès de surface + lavages (car les lavages constituent tout ce qui se trouve au dessus de l'épiderme) d'une part et Milieu récepteur + tissu (car tout ce qui pourrait être retrouvé dans le tissu a donc pénétré à travers).

Les résultats de cette étude sont présentés sur l'histogramme de la figure 4  
L'histogramme de la figure 4 montre une fonction barrière améliorée des modèles de peaux reconstruites de type EPISKIN™ après traitement par du céramide 7 formulé dans des niosômes puisque moins de caféine a pénétré dans les tissus et plus est restée en surface.

**EXEMPLE 5: Mise en évidence du déficit en céramides à bases 6-hydroxy-4-sphingénine chez les peaux sèches.**

Dans cette étude, les profils lipidiques d'échantillons de peaux normales (score 0 de sécheresse) et sèches (score 2 de sécheresse) ont été comparés. Les prélèvements (lipides directement extraits à l'aide d'une turbine par des solvants traversant le stratum) sont effectués sur 22 sujets de score 0 et 19 sujets de score 2. Les échantillons ont ensuite été poolés par score pour des raisons de sensibilité à l'analyse.

Les céramides ont donc été identifiés par HPLC / détection spectrométrie de masse après séparation des différentes classes par chromatographie sur couche mince. Une quantification des céramides contenus dans chaque bande de migration a ensuite été effectuée par HPLC /détection fluorimétrique après hydrolyse des céramides en bases et acides gras et dérivation spécifique des bases (approche quantitative très précise).

Les résultats sont présentés sur la figure 3  
Cette étude montre donc que la quantité moyenne de céramides à bases 6 hydroxy-4-sphingénine (CER 5.5, 7 et 4) est inférieure chez les peaux sèches de score 2 par rapport aux peaux normales de score 0.

**EXEMPLE 6: Préparation du céramide STAR**

## Prélèvement lipidique :

- 5 Les prélèvements ont lieu sur une cohorte de 22 femmes (volontaires sains) d'âge moyen 33,8 ans +/- 8,8 et présentant une peau qualifiée de normale par les cliniciens. Les prélèvements sont réalisés sur l'avant bras à l'aide d'une turbine après nettoyage de la peau au moyen d'un coton imbibé d'éther afin d'éliminer les traces de sébum. La chambre d'extraction de la turbine, remplie avec 10 ml de mélange hexane/éthanol (2/3) est appliquée sur une surface de 12,56 cm<sup>2</sup>. Le mélange est agité durant 1 minute puis est collecté à l'aide d'une seringue en verre puis stocké dans un récipient en verre à -20°C.

- 10 Trois prélèvements sont ainsi réalisés sur l'avant bras de chaque personne. Les échantillons sont ensuite rassemblés, évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif, repris dans 1 ml de chloroforme /méthanol (2/1) et conservé à -20°C. L'extrait sec correspondant à l'ensemble de ces prélèvements est de 36,4 mg et représente une surface extraite de 829 cm<sup>2</sup>.

## Séparation et isolement des céramides :

20

- Dans un premier temps, on sépare les céramides des autres catégories de lipides en déposant l'échantillon lipidique précédemment obtenu sur une cartouche de silice phase normale (gel de silice 60). Après élimination des lipides neutres par 10 ml de chloroforme contenant 1% d'acide acétique, les céramides sont élués avec 10 ml de mélange chloroforme /méthanol (95/5). Les céramides sont ensuite stockés dans 1 ml de chloroforme à -20 °C.

- 25 Dans un second temps, les différents céramides sont séparées par chromatographie couche mince dans les conditions suivantes :
- 30 On dépose 1,7 mg du mélange de céramides obtenus à l'issue de la première étape sur une plaque de silice Whatman LK5 de 20x20 cm et on procède à 2 éluions successives avec un mélange chloroforme /méthanol /acide acétique dans les rapports 190/5/1 pour la première élution et 190/9/1 pour la seconde élution.

- 35 Les classes de céramides sont repérées en ultraviolet (à 254 nm) après vaporisation sur la plaque d'une solution de primuline à 5 mg/100 ml. Cette observation permet de délimiter 10 zones contiguës sur la plaque de silice numérotées de 1 à 10 en allant de la



zone la plus éluée à la zone la moins éluée. La silice de chacune de ces zones est grattée, récupérée et extraite à plusieurs reprises avec un mélange de chloroforme /méthanol (2/1). Les phases organiques sont rassemblées et lavées à l'eau puis évaporées à sec pour obtenir les composés céramidiques purs. Une partie de ces  
5 céramides est ensuite remise en solution dans un mélange chloroforme/méthanol (2/1) pour identification analytique.

On récupère dans la tache no1 de la plaque de silice, les céramides décrits précédemment tels que  $n_3$  est compris entre 17 et 35,  $n_4$  est compris entre 9 et 18, et  $n_5$   
10 est compris entre 12 et 18.

#### Analyse structurale des composés céramidiques :

L'échantillon destiné à l'analyse est réparti en deux fractions.  
15

On réalise une dérivation de la première fraction céramides au moyen du chlorure de benzoyle. Les dérivés benzoylés ainsi obtenus sont séparés en chromatographie liquide haute performance et injectés dans un spectrographe de masse en sortie de colonne par couplage HPLC-MS.  
20

La deuxième fraction subit une hydrolyse alcaline pour libérer les bases sphingoides contenues dans les céramides. Les bases libérées sont dérivées à l'orthophtalaldéhyde avant d'être séparées en HPLC avec détection en fluorescence.

L'ensemble des résultats analytiques ainsi obtenu permet d'attribuer une structure  
25 moléculaire précise à chaque céramide présent dans l'échantillon.

Dans le mélange, on isole une fraction A contenant les céramides tels que  $n_3$  est compris entre 25 et 27,  $n_4$  est égal à 11, et  $n_5$  est égal à 14.

#### 30 EXEMPLE 7 : Préparation du céramide 2.5

La préparation du céramide 2.5 est identique à celle du céramide STAR de l'exemple 6 à la différence de l'étape de séparation et d'isolement des céramides à l'issu de laquelle on récupère dans la tache no4 de la plaque de silice, les céramides décrits précédemment  
35 tels que  $n_1$  est compris entre 22 et 35 et  $n_2$  est compris entre 11 et 21 et RCO désigne un résidu linoléoyle. En outre, au cours de l'analyse structurale des composés céramidiques on isole dans le mélange, une fraction A contenant les céramides telles que  $n_1$  est égal à

29, et n<sub>2</sub> est compris entre 13 et 15.

### **EXEMPLE 8 : Compositions**

#### Formule aux Liposomes contenant le céramide 7

5	Lécithine de soja (enrichie à 75% de PC) Lipoïd S75	0.5000%
	Propylène glycol	3.0000%
	Céramide 7	0.0315%
	Eau	qsp 100%

#### 10 Formule aux Liposomes contenant le céramide 5.5

	Lécithine de soja (enrichie à 75% de PC) Lipoïd S75	0,5000%
	Propylène glycol	3,0000%
	Céramide 5.5	0,0315%
	Eau	qsp 100%

15

#### Crème hydratante à base d'une suspension de Ceramide 7

##### Phase vésiculaire

	- Palmitate de sorbitane	2,250%
	- Cholesterol	1,125%
20	- N stearyl l glutamic acid disodium	0,500%
	- Céramide 7	0,315%
	- Glycérine	5,000%
	- Méthylparaben	0,300%
	- Eau déminéralisée	qsp 100%

#### 25 Phase A1 :

	- Stearyl heptanoate	4,0%
	- Vaseline codex	1,5 %
	- Huile d'avocat	3,2 %
	- Huile de jojoba	3,0%
30	- Huile de silicone volatile	2,7 %
	- Acétate de vitamine E	1,0%
	- D α tocophérol naturel commercialisé par la Société Henkel sous le nom « CIPHEROL 1300 »	1%
	- Glycérides de Vitamine F	3%

35

##### Phase A2 :

- Gomme de silicone commercialisée par Dow Corning sous le nom « Q2-1403 FLUID » 3,0%
- Propylparaben 0,2%
- Parfum 0,3%

5

Phase B :

- Mélange de polymères carboxyvinylques commercialisé sous le nom « CARBOPOL 940 » par la Société Goodrich 0,40%
- Eau déminéralisée 9,50%
- 10 - Triéthanolamine 0,25%

La phase vésiculaire est préparée selon l'un des procédés déjà décrits puis homogénéisée par 2 passages par un homogénéisateur haute pression, à 500b, de type Soavi OBL 20 ou Microfluidics.

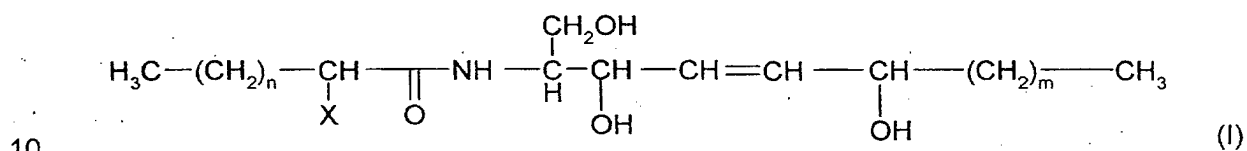
- 15 Les phases A1 et A2 sont ensuite ajoutée sous agitation rotor-stator suffisante pour faire une prédispersion d'huile suffisamment stable. L'ensemble est ensuite homogénéisé 2 fois à 500b.

La phase B, préalablement préparée, est ajoutée à l'émulsion précédemment préparée et dispersée à l'aide d'une turbine type défloculeuse.

- 20 On obtient une crème blanche, lisse, adaptée au traitement des peaux sèches.

## REVENDEICATIONS

1. Composition comprenant une dispersion, dans une phase aqueuse externe, de vésicules formées par des phases lamellaires lipidiques séparées les unes des autres par des couches hydrophiles, lesdites phases lamellaires comprenant au moins un lipide amphiphile, et au moins un dérivé de formule (I) suivante inclus dans lesdites phases lamellaires lipidiques



dans laquelle :

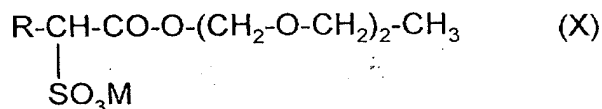
- X représente un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxyle (OH) ;
- n est compris entre 19 et 29 carbones ;
- 15 - m est compris entre 9 et 19 carbones.

2. Composition suivant la revendication 1, caractérisée en ce que n est compris entre 21 et 27; m est compris entre 9 et 15.
- 20 3. Composition suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que n est égal à 21, 22 ou 23; m est égal à 11, 12 ou 13.
4. Composition suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que n est égal à 21 et m est égal à 11.
- 25 5. Composition suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que X représente un groupement hydroxyle.
6. Composition suivant l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée
- 30 est ce que les vésicules sont des niosomes ou des liposomes.
7. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le taux de céramide 7 ou ses dérivés de formule (I) représente de 0.001% à 30% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules.

8. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le taux de céramide 7 ou ses dérivés de formule (I) représente de 0.001% à 10%, de préférence 0.001% à 5% par rapport au poids total de la composition lipidique constituant les vésicules.
9. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le rapport en poids entre la quantité de phase lipidique et la quantité de phase aqueuse de la dispersion étant compris entre 1/1000 et 300/1000.
10. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que les phases lamellaires comprennent au moins un lipide amphiphile non ionique, choisi parmi :
- les esters et/ou les éthers de polyol et d'acide gras, polyoxyéthylénés ou non ;
  - les esters et/ou les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglycoside;
  - les phospholipides synthétiques ou naturels, hydrogénés ou non.
11. Composition suivant la revendication 10, caractérisée en ce que les esters ou les éthers de polyol et d'acide gras sont choisis parmi les mélanges d'esters ou les mélanges d'éthers d'au moins un polyol choisi dans le groupe formé par le polyéthylèneglycol comportant de 1 à 60 unités oxyde d'éthylène, le sorbitane, le sorbitane portant 2 à 60 unités d'oxyde d'éthylène, le glycérol portant 2 à 30 unités d'oxyde d'éthylène, les polyglycérols comportant 2 à 15 unités glycérol, les sucroscs, les glucoses portant 2 à 30 unités oxyde d'éthylène, et au moins un acide gras comportant une chaîne alkyle en  $C_{5-22}$ , saturée ou non saturée, linéaire ou ramifiée, le nombre de chaînes alkyle par groupe polyol étant compris entre 1 et 10.
12. Composition suivant la revendication 10, caractérisée en ce que les esters et/ou les éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglycoside sont choisis parmi:
- des mélanges d'esters et/ou des mélanges d'éthers de différents acides gras d' $\alpha$ -butylglucoside dont les différentes chaînes grasses comportent, l'une par rapport à l'autre, un nombre d'atomes de carbone voisin ou,
  - des mélanges de mono-, di- tri- ou polyesters et/ou des mélanges de mono-, di- tri-polyéthers d'un même acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside;
- les dits esters et lesdits éthers d'acide gras d' $\alpha$ -butylglucoside utilisé(s) comporte(nt) une chaîne grasse ayant de 8 à 24 atomes de carbone.

13. Composition selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, caractérisée en ce que les phases lamellaires comprennent en outre au moins un lipide amphiphile ionique.

- 5 14. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce que le lipide amphiphile ionique est choisi dans le groupe formé par :
- les sels alcalins du dicétyl- et du dimyristylphosphate ;
  - les sels alcalins du cholestérol sulfate ;
  - les sels alcalins du cholestérol phosphate ;
  - 10 - les lipoaminoacides et leurs sels tels que les acylglutamates mono- et di-sodiques comme le sel disodique de l'acide N-stéaroyl L-glutamique commercialisé sous la dénomination Acylglutamate HS21 par la société AJINOMOTO ;
  - les sels de sodium de l'acide phosphatidique ;
  - les phospholipides ;
  - 15 - les dérivés alkylsulfoniques notamment de formule (X) :

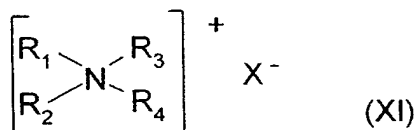


dans laquelle R représente des radicaux alkyle en C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>, en particulier les radicaux C<sub>16</sub>H<sub>33</sub> et C<sub>18</sub>H<sub>37</sub> pris en mélange ou séparément et M est un métal alcalin ou alcalino-terreux tel que le sodium ; et leurs mélanges;

- les sels d'ammonium quaternaire, les amines grasses et leurs sels.

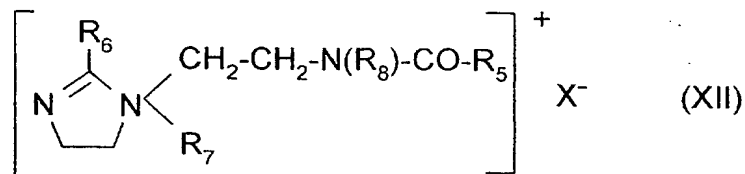
15. Composition selon la revendication 14, caractérisée en ce que les sels d'ammonium quaternaire sont choisis parmi:

- Les sels d'ammonium quaternaires représentés par la formule (XI) suivante;



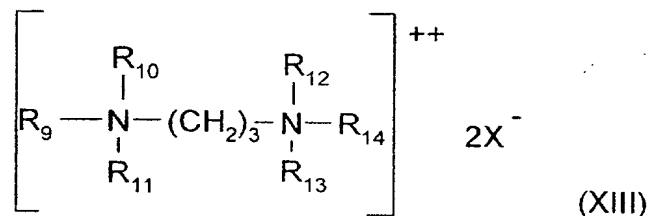
dans laquelle les radicaux R<sub>1</sub> à R<sub>4</sub>, qui peuvent être identiques ou différents, représentent un radical aliphatique, linéaire ou ramifié, comportant de 1 à 30 atomes de carbone, ou un radical aromatique tel que aryle ou alkylaryle; X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, phosphates, acétates, lactates, alkyl(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)sulfates, alkyl-ou-alkylarylsulfonates;

- les sels d'ammonium quaternaire de l'imidazolinium représentés par la formule (XII) suivante:



- 5 dans laquelle R<sub>5</sub> représente un radical alcényle ou alkyle comportant de 8 à 30 atomes de carbone par exemple dérivés des acides gras du suif, R<sub>6</sub> représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou un radical alcényle ou alkyle comportant de 8 à 30 atomes de carbone, R<sub>7</sub> représente un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, R<sub>8</sub> représente un atome d'hydrogène, un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, phosphates, acétates, lactates, alkylsulfates, alkyl-ou-alkylarylsulfonates;
- 10

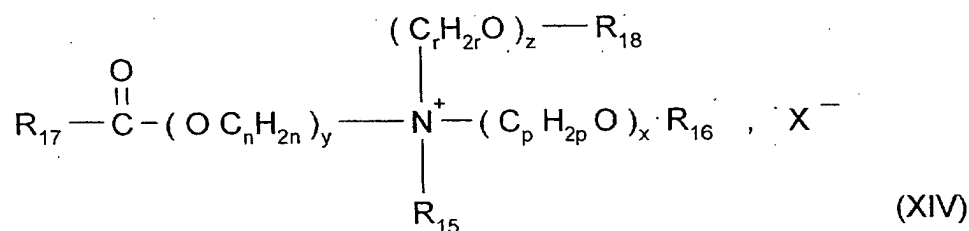
- les sels de diammonium quaternaire représentés par la formule (XIII) suivante;



- 15 dans laquelle R<sub>9</sub> désigne un radical aliphatique comportant environ de 16 à 30 atomes de carbone, R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub> et R<sub>14</sub>, identiques ou différents sont choisis parmi l'hydrogène ou un radical alkyle comportant de 1 à 4 atomes de carbone, et X est un anion choisi dans le groupe des halogénures, acétates, phosphates, nitrates et méthylsulfates;
- 20

- les sels d'ammonium quaternaire contenant au moins une fonction ester.

16. Composition selon la revendication 14, caractérisée en ce que les sels d'ammonium quaternaire contenant au moins une fonction ester répondent à la formule (XIV) suivante
- 25 :



dans laquelle :

- R<sub>15</sub> est choisi parmi les radicaux alkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> et les radicaux hydroxyalkyles ou dihydroxyalkyles en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> ;
  - 5      - R<sub>16</sub> est choisi parmi :
    - le radical R<sub>19</sub>-CO- ;
    - les radicaux R<sub>20</sub> hydrocarbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>22</sub> linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
    - l'atome d'hydrogène ;
  - 10     - R<sub>18</sub> est choisi parmi :
    - le radical R<sub>19</sub>-CO- ;
    - les radicaux R<sub>22</sub> hydrocarbonés en C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
    - l'atome d'hydrogène ;
  - 15     - R<sub>17</sub>, R<sub>19</sub> et R<sub>21</sub>, identiques ou différents, sont choisis parmi les radicaux hydrocarbonés en C<sub>7</sub>-C<sub>21</sub>, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés ;
  - n, p et r, identiques ou différents, sont des entiers valant de 2 à 6 ;
  - y est un entier valant de 1 à 10 ;
  - x et z, identiques ou différents, sont des entiers valant de 0 à 10 ;
  - 20     - X<sup>-</sup> est un anion simple ou complexe, organique ou inorganique ;
- sous réserve que la somme x + y + z vaut de 1 à 15 , que lorsque x vaut 0 alors R<sub>16</sub> désigne R<sub>20</sub> et que lorsque z vaut 0 alors R<sub>18</sub> désigne R<sub>22</sub>.

17. Composition selon la revendication 16, caractérisée en ce que les sels d'ammonium quaternaire contenant au moins une fonction ester correspond à la formule (XIV) dans laquelle :

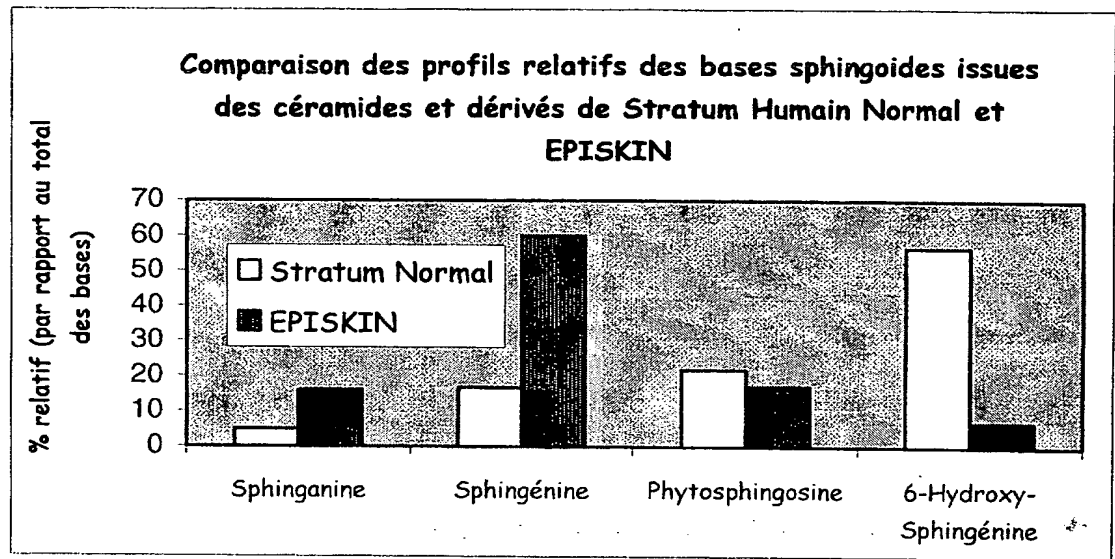
- R<sub>15</sub> désigne un radical méthyle ou éthyle,
- x et y sont égaux à 1 ;
- z est égal à 0 ou 1 ;
- 30    - n, p et r sont égaux à 2 ;
- R<sub>16</sub> est choisi parmi :
  - le radical R<sub>19</sub>-CO- ;



- les radicaux méthyle, éthyle ou hydrocarbonés en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> ;
  - l'atome d'hydrogène ;
  - R<sub>18</sub> est choisi parmi :
    - le radical R<sub>21</sub>-CO- ;
    - l'atome d'hydrogène ;
- 5
- R<sub>17</sub>, R<sub>19</sub> et R<sub>21</sub>, identiques ou différents, sont choisis parmi les radicaux hydrocarbonés en C<sub>13</sub>-C<sub>17</sub>, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés et de préférence parmi les radicaux alkyles et alcényle en C<sub>13</sub>-C<sub>17</sub>, linéaires ou ramifiés, saturés ou insaturés.
- 10
18. Composition selon l'une quelconque des revendications 10 à 17, caractérisée en ce que, le rapport en poids entre la quantité de lipide amphiphile non-ionique et de lipide amphiphile est compris entre 50/1 et 50/25.
- 15
19. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que lesdites phases lamellaires contiennent au moins un additif choisi parmi les stérols, les alcools et diols à chaîne grasse, les amines à chaîne grasse et leurs dérivés ammonium quaternaire.
- 20
20. Composition selon la revendication 19, caractérisée en ce que ledit additif est le cholestérol.
21. Composition selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un autre céramide inclus dans lesdites phases lamellaires lipidiques, le dit céramide étant choisi parmi les céramides STAR, 1, 2, 2.5, 3, 4, 5 et/ou 6.
- 25
22. Composition suivant la revendication 21, caractérisé en ce que le céramide est choisi parmi les céramides STAR et/ou 4.
- 30
23. Composition suivant l'une quelconques des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'elle contient un autre composé permettant d'améliorer la fonction barrière choisi parmi l'acide ascorbique ou ses analogues, les lécithines, les glycosphingolipides, les phospholipides, le cholestérol et ses dérivés, les phytostérols (stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol, campestérol), les acides gras essentiels, le 1-2 diacylglycérol, la 4-chromanone, les triterpènes pentacycliques tels que l'acide ursolique, la vaseline et la lanoline.
- 35

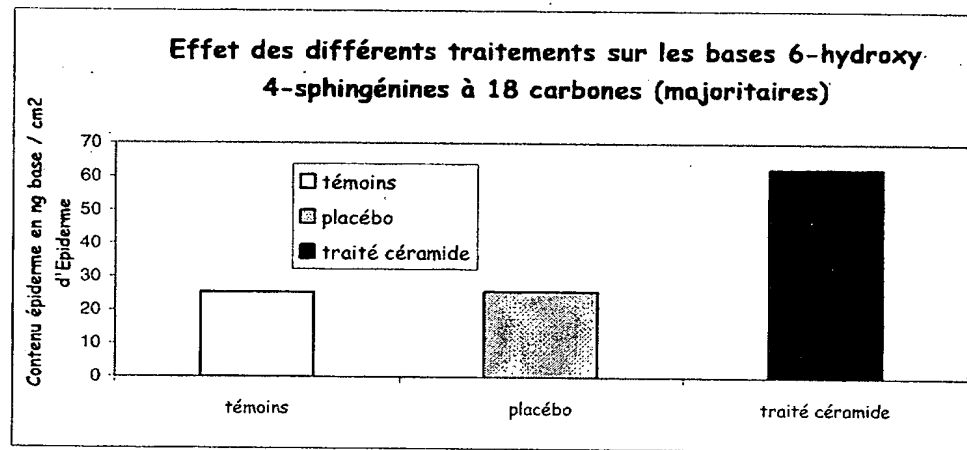
24. Composition suivant l'une quelconques des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'elle contient un actif additionnels choisi parmi : les agents desquamants ; les agents hydratants ; les agents dépigmentants ou propigmentants ; les agents anti-glycation ; les inhibiteurs de NO-synthase ; les agents stimulant la synthèse de macromolécules dermiques ou épidermiques et/ou empêchant leur dégradation ; les agents stimulant la prolifération des fibroblastes et/ou des kératinocytes ou stimulant la différenciation des kératinocytes ; les agents myorelaxants ; les agents tenseurs ; les agents anti-pollution et/ou anti-radicalaire ; les agents agissant sur la microcirculation ; les agents agissant sur le métabolisme énergétique des cellules ; et leurs mélanges.
25. Composition suivant l'une quelconques des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'elle contient un adjuvants choisi parmi les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les absorbeurs d'odeur, les neutralisants, les filtres solaires, les polymères, les émulsionnants et les coémulsionnants, et les matières colorantes.
26. Utilisation topique d'une composition suivant l'une quelconque des revendications précédentes pour :
- renforcer la fonction barrière des épidermes humains normaux, et/ou
  - améliorer la fonction barrière d'un épiderme présentant un déficit en céramides à base 6-hydroxy-4-sphingénine, de préférence des peaux sèches, des peaux rugueuses et/ou abîmées et/ou âgées et/ou sensibles, et/ou
  - rétablir ou maintenir l'intégrité du stratum corneum, et/ou
  - améliorer l'aspect de surface et/ou l'hydratation de la peau, et/ou
  - améliorer et/ou maintenir le contenu lipidique de l'épiderme humain.
27. Utilisation d'une composition suivant l'une quelconque des revendications 1 à 25 pour la fabrication d'une composition destinée au traitement des peaux atopiques.
28. Procédé de traitement cosmétique d'embellissement ou d'hydratation de la peau humaine, caractérisé à ce qu'il consiste à appliquer topiquement sur la peau une composition suivant l'une quelconque des revendications 1 à 25.

FIGURE 1



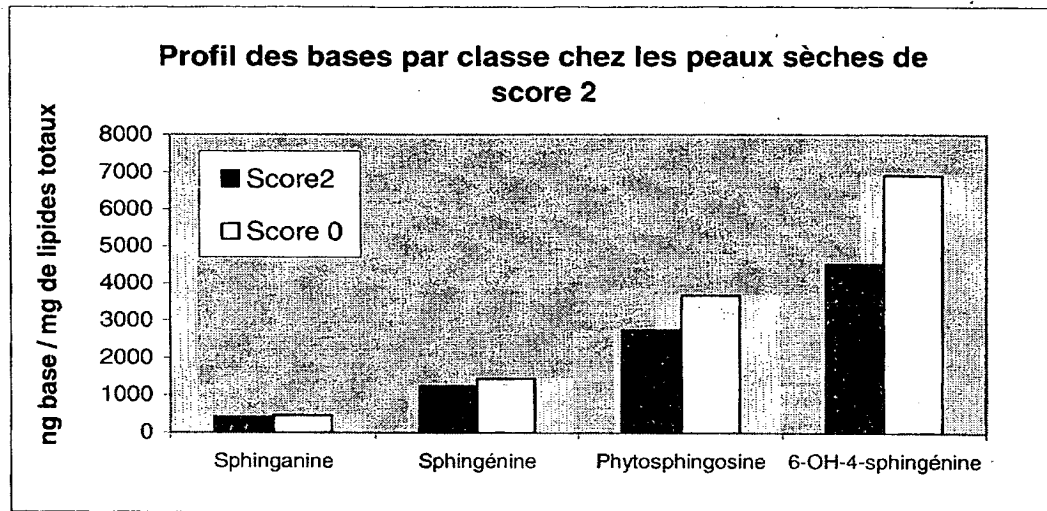
5

FIGURE 2



10

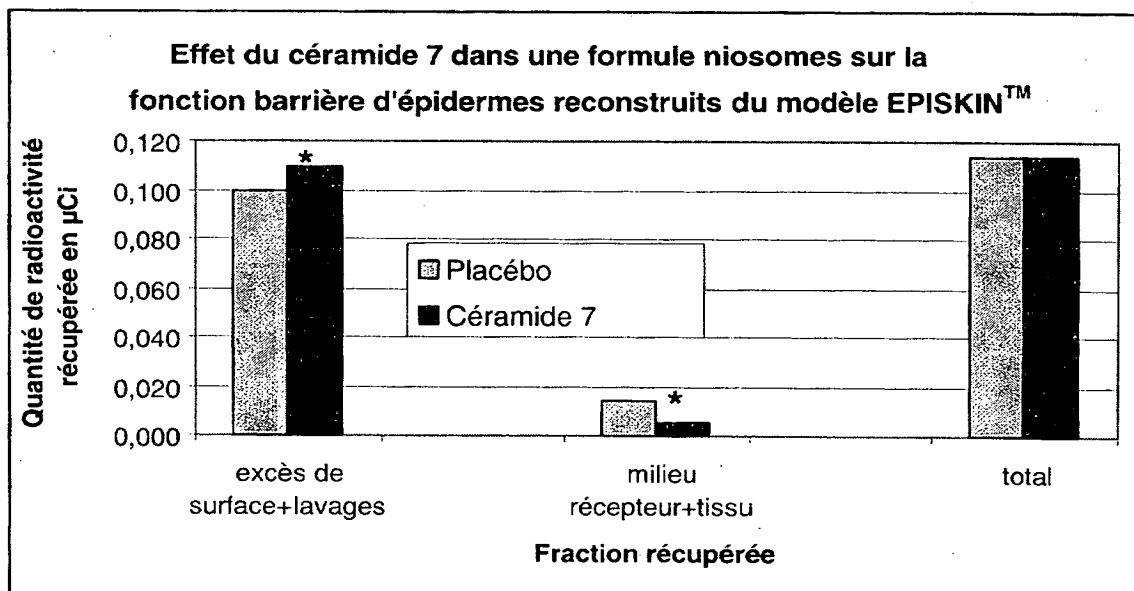
FIGURE 3



5

FIGURE 4

10



\* : Résultats significatifs à 15 %



## DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

## BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11235\*02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1.. / 1..

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

<b>V s références pour ce dossier</b> (facultatif)		OA03025/BN/DBA	
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		0301059	
<b>TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b> Composition à base de vésicules lamellaires lipidiques incorporant au moins un dérivé de la famille du céramide 7 et/ou 5.5, utilisation pour améliorer la fonction barrière des épidermes.			
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b> L'ORÉAL 14, rue Royale 75008 PARIS France			
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois invent urs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		CHOPART	
Prénoms		Mélanie	
Adresse	Rue	34, rue Santerre	
	Code postal et ville	75012	PARIS
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		CASTIEL	
Prénoms		Isabelle	
Adresse	Rue	7, avenue Baquis	
	Code postal et ville	06000	NICE
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		SIMONNET	
Prénoms		Jean-Thierry	
Adresse	Rue	24, Rue Léon Frot	
	Code postal et ville	75011	PARIS
Société d'appartenance (facultatif)			
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b> <b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b> <b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) 16 Juillet 2003  Myriam ALLAB			

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**